ฤทธิ์ของโซเดียมไนไตรท์ต่อค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา เมทฮีโมโกลบิน และความเปราะของเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง

Effect of Sodium Nitrite on Hematological Parameters, Methemoglobin Level and Erythrocyte Osmotic Fragility *in Vitro*

กาญจนา ศิริรัตน์[1*], ธนสาร ศิริรัตน์[1], ฐิติพร พลทา[2], วนัสนันท์ สุมะหิงพันธ์[3], วราพร วงศ์วรรธนะโชติ[4],
สุวรรณา เสมศรี[1], ดวงมณี แสนมั่น[1], สุชา จุลสำลี[1], มยุรี เก่งเกตุ[1], วีรวรรณ ชาญศิลป์[1],
[1]อาจารย์ประจำ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
[2]แผนกห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โรงพยาบาลเกษมราษฎร์ ประชาชื่น
[3]กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสีคิ้ว
[4]ห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
[*]Email : kanjana.sirir@gmail.com

บทคัดย่อ

หลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการสูดดมละอองฝอยของโซเดียมไนไตรท์มีผลทำให้เกิดการสร้างไนตริกออกไซด์ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดและสามารถลดความดันเลือดในปอดได้ ไนไตรท์บางส่วนที่ไม่ได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นไนตริกออกไซด์จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งจะไปมีผลกระทบโดยตรงต่อเม็ดเลือดแดง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ของโซเดียมไนไตรท์ต่อค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา เมทฮีโมโกลบิน และความเปราะของเม็ดเลือดแดง ซึ่งทำการศึกษาโดยนำเลือดจากอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 ราย ไปบ่มกับสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มสุดท้าย 1, 2, 4, 8 และ 16 μM ที่ 37 ^{o}C นาน 30 นาที จากนั้นจึงนำมาวัดค่าต่าง ๆ ผลการศึกษาพบว่าไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 μM ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา และความเปราะของเม็ดเลือดแดง แต่มีผลทำให้ค่าเมทฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นการนำไนไตรท์มาใช้ในทางคลินิกควรมีการติดตามวัดระดับของค่าเมทฮีโมโกลบินอยู่เสมอเพื่อป้องกันไม่ให้ผู้ป่วยเกิดภาวะขาดออกซิเจน

คำสำคัญ : โซเดียมไนไตรท์ ค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา เมทฮีโมโกลบิน ความเปราะของเม็ดเลือดแดง

Abstract

Several studies showed that inhaling sodium nitrite could induce nitric oxide formation, which can cause vasodilation and lower blood pressure in lungs. Remaining nitrite that is not converted to nitric oxide is absorbed from lungs into systemic circulation which directly impact red blood cells. This study aimed to evaluate the effect of sodium nitrite on hematological parameters, methemoglobin level and erythrocyte osmotic fragility. Blood sample collected from 30 heathy subjects were incubated with sodium nitrite at final concentrations of 1, 2, 4, 8 and 16 μM at 37 ^{o}C for 30 minutes. Then hematological parameters, methemoglobin level and

erythrocyte osmotic fragility were measured. The results showed that nitrite at concentrations of 1, 2, 4, 8 and 16 μM did not cause an effect on hematological parameters and erythrocyte fragility. However, all nitrite concentrations caused an increase in methemoglobin levels significantly ($p < 0.05$). Therefore, if sodium nitrite needs to be used clinically, methemoglobin should be checked routinely in order to prevent hypoxia.

Keywords : Sodium nitrite, hematological parameters, methemoglobin, erythrocyte osmotic fragility

บทนำ

สารโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ถูกนำมาใช้สำหรับการถนอมอาหารและการแต่งสีในผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อสัตว์ (Govari and Pexara, 2018) มนุษย์จึงได้รับสารไนไตรท์จากการบริโภคอาหารในกลุ่มเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อแปรรูป เช่น ไส้กรอก แฮม กุนเชียง และแหนม และยังสามารถได้รับจากพืชผักใบเขียวได้ด้วย เช่น ร็อคเก็ต แรดิส ผักโขม บีทรูท ผักกาดหอม ผักคะน้า และคื่นช่าย ส่วนน้อยของสารไนไตรท์ได้มาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไนตริกออกไซด์ (nitric oxide-nitrite-nitrate pathway) ในร่างกาย (Hord, Tang and Bryan, 2009) โดยภาวะปกติไนไตรท์จะถูกพบได้ในกระแสเลือดประมาณ 100 – 500 nM (Dejam et al., 2005) และพบสูงขึ้นในเซลล์และเนื้อเยื่อประมาณ 1 – 10 μM (Rassaf, Ferdinandy and Schulz, 2014)

ในทางการแพทย์โซเดียมไนไตรท์ถูกนำมาใช้เป็นยาแก้พิษในผู้ป่วยที่ได้รับสารไซยาไนด์ (Bebarta et al., 2017) และกำลังเป็นที่สนใจในการนำมาใช้เป็นยาลดความดันของหลอดเลือดในปอดในผู้ป่วยที่มีภาวะความดันเลือดในปอดสูง (pulmonary hypertension) ทั้งนี้เนื่องจากไนไตรท์สามารถถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของไนตริกออกไซด์ด้วยเอนไซม์ nitrite reductase ในสภาวะที่ร่างกายเป็นกรดหรือมีออกซิเจนต่ำ โดยไนตริกออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ soluble guanylate cyclase ที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบให้มีการสร้าง cGMP สูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและป้องกันการตายของเซลล์ (Bashline et al., 2020; Bueno et al., 2013; Nilsson and Gustafsson, 2019; Parakaw et al., 2017; Simon et al., 2016; Sirirat et al., 2019; Yingchoncharoen et al., 2018)

อย่างไรก็ตามหากมีปริมาณของไนไตรท์ในกระแสเลือดที่มากเกินไปจะส่งผลให้ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ในเม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ซึ่งไม่มีความสามารถในการนำพาออกซิเจนไปใช้ได้ นอกจากนี้แล้วไนไตรท์ที่มากเกินไปยังก่อให้เกิดการสร้างอนุพันธ์ออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และส่งผลทำให้เกิดความเสียหายกับเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง (May et al., 2000) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ของโซเดียมไนไตรท์ต่อค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา เมทฮีโมโกลบิน และความเปราะของเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง ทั้งนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้ความเข้มข้นของไนไตรท์ตามที่มีการทดลองในมนุษย์ (Rix et al., 2015; Sirirat et al., 2019; Yingchoncharoen et al., 2018)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของโซเดียมไนไตรท์ต่อค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน และความเปราะของเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง

ระเบียบวิธีวิจัย

กลุ่มตัวอย่างและการเจาะเก็บตัวอย่างเลือด

อาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 ราย อายุ 20 ปีขึ้นไปที่มีค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยาและเมทฮีโมโกลบินอยู่ในเกณฑ์ปกติ ไม่มีโรคประจำตัว ไม่สูบบุหรี่และไม่ดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม เมื่ออาสาสมัครลงนามยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จะเจาะเก็บเลือดปริมาตร 12 mL ใส่ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA การวิจัยครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมโดยคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ (เอกสารรับรองโครงการวิจัยหมายเลข อ.708/2561)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการทดสอบ

ตัวอย่างเลือดแต่ละตัวอย่างจะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทดสอบกับสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งการเตรียมสารทำโดยเจือจางโซเดียมไนไตรท์ด้วย phosphate buffer saline (PBS) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเมื่อบ่มกับเลือดแล้วมีค่าเท่ากับ 1, 2, 4, 8 และ 16 μM และกลุ่มควบคุมเตรียมโดยการบ่มเลือดกับ PBS กลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C นาน 30 นาที เมื่อครบเวลาจึงนำไปตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา เมทฮีโมโกลบิน และความเปราะของเม็ดเลือดแดง

การตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา

พารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยาที่ได้ทำการตรวจวัดประกอบด้วย จำนวนเม็ดเลือดขาว (White blood cell: WBC) จำนวนเม็ดเลือดแดง (Red blood cell: RBC) ค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin: Hb) ค่าฮีมาโตคริต (Hematocrit: Hct) และค่าดัชนีของเม็ดเลือดแดง (Red blood cell indices) ซึ่งมีดังนี้ ขนาดเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular volume: MCV) ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของฮีโมโกลบินต่อหนึ่งเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin: MCH) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินต่อหนึ่งเม็ดเลือดแดง (Mean corpuscular hemoglobin concentration: MCHC) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XT-1800i (Sysmex Corporation, Kobe, Japan)

การตรวจวัดค่าเมทฮีโมโกลบิน (Methemoglobin: MetHb) (Sato, 2005)

นำเลือด 0.2 mL ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 6 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม PBS 4 mL ผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกน้ำสีแดงใส (hemolysate) ใส่หลอดทดสอบ 2 หลอด หลอดละ 3 mL

หลอดที่ 1 นำไปทำปฏิกิริยากับ 5% KCN 30 μL เพื่อทำการตรวจวัด methemoglobin ที่ค่าการดูดกลืนแสง 630 nm (Photometer 5010 V5+; Berlin, Germany) โดยการใช้ PBS 3 mL กับ 5% KCN 30 μL เป็น blank ค่าที่ได้เป็น (O.D.1 – O.D.2)

หลอดที่ 2 นำไปทำปฏิกิริยากับ 4% K_3FeCN_6 0.5 µL และ 5% KCN 30 µL เพื่อทำการตรวจวัด total hemoglobin ที่ค่าการดูดกลืนแสง 630 nm โดยการใช้ส่วนผสมของ PBS 3 mL 4% K_3FeCN_6 0.5 µL และ 5% KCN 30 µL เป็น blank ค่าที่ได้เป็น (O.D.3 – O.D.4)

คำนวณหาเมทฮีโมโกบินโดยใช้สูตร MetHb (%) = [(O.D.1 – O.D.2) / (O.D.3 – O.D.4)] x 100

การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง (Osmotic fragility test: OF test) (Dewey, Brown and Nallaseth, 1982)

เจือจางสารละลาย 1% NaCl ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 และ 0% ตามลำดับ ใช้เลือด 50 µL ผสมกับสารละลาย NaCl ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 5 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ครบเวลานำไปปั่นที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำของเหลวส่วนบนมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm และคำนวณหาร้อยละการแตกของเม็ดเลือดแดงโดยใช้สูตร

Hemolysis (%) = (O.D. test / O.D. 0% NaCl) x 100

การรายงานผลและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลของผลการทดสอบจะรายงานเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติแบบ Unpaired t-test ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 5 (GraphPad software, LA Jolla, CA, U.S.A.) โดยการเปรียบเทียบผลของกลุ่มตัวอย่างเลือดทดสอบที่ถูกบ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มตัวอย่างเลือดควบคุม

ผลการศึกษา

ฤทธิ์ของโซดียมไนไตรท์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา

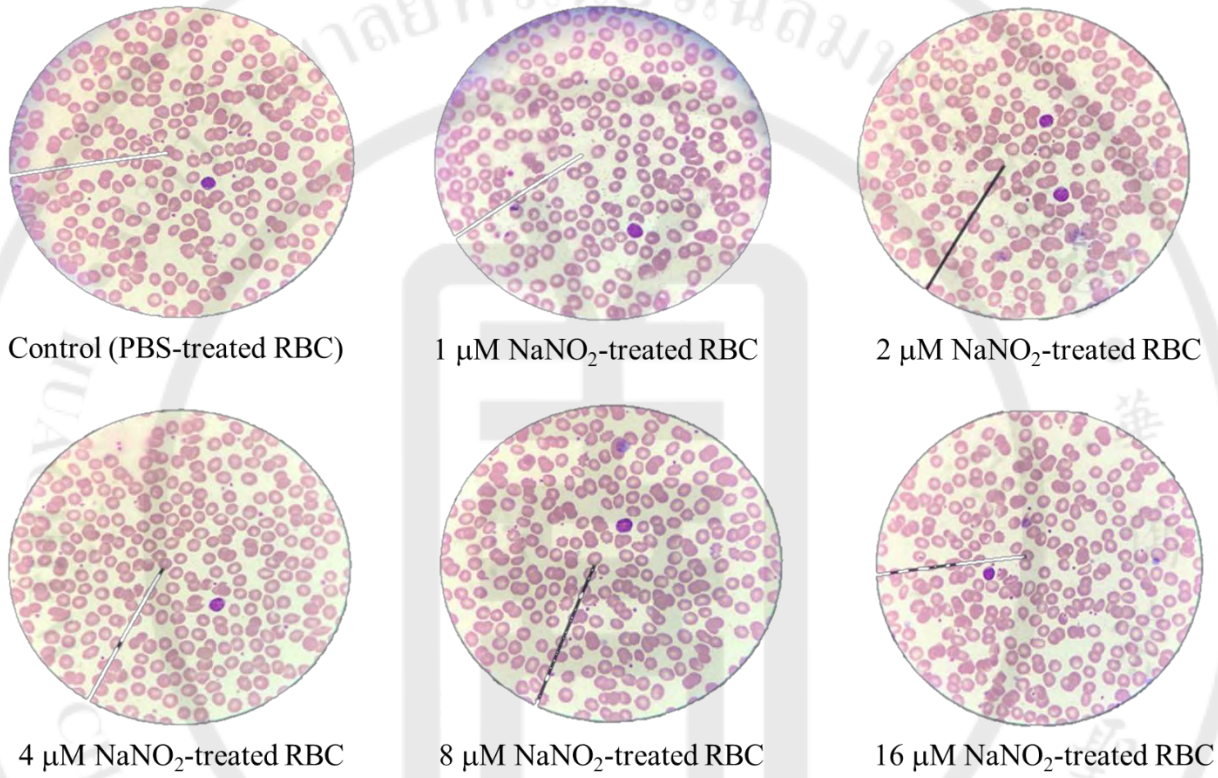
ผลการทดสอบพบว่าโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 µM ในเลือดไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวน WBC, RBC, ค่าของ Hb, Hct และ Red blood cell indices ซึ่งประกอบด้วย MCV, MCH, MCHC (ตารางที่ 1) นอกจากนี้แล้วยังไม่ส่งผลต่อรูปร่างและลักษณะทั่วไปของเซลล์เม็ดเลือดด้วย (รูปที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต และดัชนีของเม็ดเลือดแดงของกลุ่มตัวอย่างทดสอบที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม

Test		Hematological parameters (Mean ± S.D.)						
		WBC ($x 10^3$/µl)	RBC ($x 10^6$/µl)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
Control (n = 30)		6.1 ± 1.4	4.3 ± 0.3	11.5 ± 0.7	33.8 ± 3.8	80.4 ± 6.7	26.8 ± 2.3	33.4 ± 0.9
$NaNO_2$-treated RBC (n = 30)	1 µM	6.1 ± 1.5	4.3 ± 0.3	11.5 ± 0.7	34.6 ± 2.2	80.4 ± 6.9	26.7 ± 2.3	33.2 ± 0.9
	2 µM	6.1 ± 1.5	4.3 ± 0.3	11.5 ± 0.7	34.6 ± 2.1	80.3 ± 6.8	26.7 ± 2.3	33.2 ± 0.9
	4 µM	6.2 ± 1.5	4.3 ± 0.3	11.2 ± 2.0	34.6 ± 2.3	80.3 ± 6.8	26.7 ± 2.3	33.3 ± 0.9
	8 µM	6.1 ± 1.5	4.3 ± 0.3	11.5 ± 0.8	34.6 ± 2.3	80.3 ± 6.8	26.7 ± 2.3	33.3 ± 0.9
	16 µM	6.2 ± 1.5	4.3 ± 0.3	11.5 ± 0.8	34.5 ± 2.3	80.3 ± 6.7	26.7 ± 2.3	33.2 ± 0.9

ค่า hematological parameters ระหว่างกลุ่มตัวอย่างเลือดที่ถูกบ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (1, 2, 4, 8 และ 16 µM) กับกลุ่มตัวอย่างเลือดควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

หมายเหตุ: Control = ตัวอย่างเลือดที่บ่มกับ PBS, $NaNO_2$-treated RBC = ตัวอย่างเลือดที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์, WBC = เม็ดเลือดขาว, RBC = เม็ดเลือดแดง, Hb = ฮีโมโกลบิน, Hct = ฮีมาโตคริต, MCV = ขนาดเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง, MCH = ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของฮีโมโกลบินต่อหนึ่งเม็ดเลือดแดง และ MCHC = ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินต่อหนึ่งเม็ดเลือดแดง



รูปที่ 1 ตัวอย่างรูปร่างและลักษณะทั่วไปของเซลล์เม็ดเลือด (light microscope, 100x oil) ของเลือดควบคุมกับตัวอย่างเลือดทดสอบที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ฤทธิ์ของโซดียมไนไตรท์ในการเพิ่มปริมาณเมทฮีโมโกลบิน

ผลการทดสอบพบว่าโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 µM ในเลือดส่งผลให้ %MetHb เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเพิ่มขึ้นของ %MetHb จะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของเมทฮีโมโกลบินของกลุ่มตัวอย่างเลือดทดสอบที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เทียบกับกลุ่มตัวอย่างเลือดควบคุม

%MetHb (Mean ± S.D.)					
Control (n = 30)	**$NaNO_2$-treated blood** (n = 30)				
	1 μM	**2 μM**	**4 μM**	**8 μM**	**16 μM**
0.5 ± 0.4	0.9 ± 0.5*	1.0 ± 0.6*	1.2 ± 0.6**	1.5 ± 0.8**	2.0 ± 1.4**

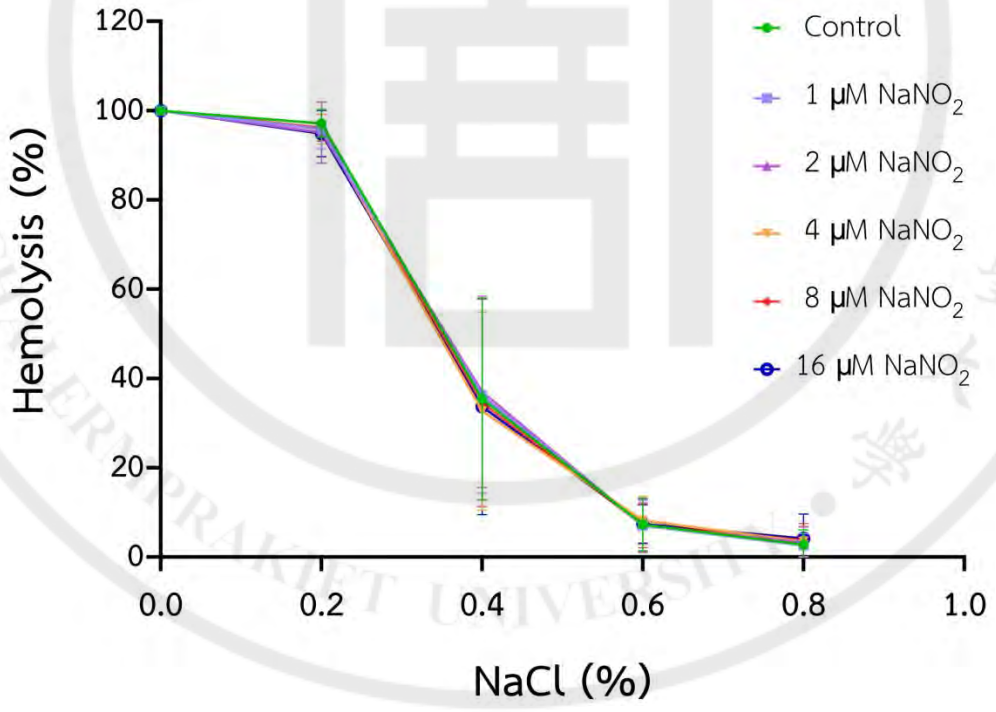
หมายเหตุ: Control = ตัวอย่างเลือดที่บ่มกับ PBS, $NaNO_2$-treated blood = ตัวอย่างเลือดที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์, MetHb = เมทฮีโมโกลบิน

* มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

** มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ฤทธิ์ของโซดียมไนไตรท์ต่อความเปราะของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง

ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยการทำ osmotic fragility test พบว่าโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 μM ในเลือดไม่มีผลกระทบทำให้เม็ดเลือดแดงมีการแตกเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างเลือดควบคุม (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การแตกของเม็ดเลือดแดงของกลุ่มตัวอย่างเลือดที่บ่มกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เทียบกับกลุ่มตัวอย่างเลือดควบคุมเมื่ออยู่ในน้ำเกลือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

วิจารณ์ผลการศึกษา

สารโซเดียมไนไตร์ที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่าเป็นสารกันบูดที่ใส่ไปในอาหารแปรรูปจำพวกเนื้อสัตว์ โดยมีฤทธิ์ในยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *Clostridium botulinum* ที่สามารถสร้างสารพิษร้ายแรงถึงขั้นเสียชีวิตให้กับผู้บริโภคได้ นอกจากนี้แล้วยังเป็นที่เข้าใจกันมานานว่าการบริโภคเนื้อสัตว์ที่มีสารกันบูดเจือปนจะก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (Govari and Pexara, 2018) แต่การศึกษาในช่วงระยะหลาย 10 ปีที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าไนไตรท์สามารถถูกเปลี่ยนไปเป็นไนตริกออกไซด์ซึ่งมีฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่ผนังหลอดเลือดได้ในภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (van Faassen et al,2009) ดังนั้นไนตริกออกไซด์ที่ได้มาจากไนไตรท์จึงมีบทบาทในการรักษาสมดุลของระบบหัวใจและหลอดเลือด และขณะนี้กำลังเป็นที่สนใจให้กับนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน ในการนำไนไตรท์มาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคทางหลอดเลือด เช่น โรคความดันเลือดสูง โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และโรคความดันหลอดเลือดแดงสูงในปอด (Amdahl, DeMartino and Gladwin, 2020) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณไนไตรท์ในกระแสเลือดที่มากกว่า 12 μM จะมีผลทำให้ความดันต่ำ และหัวใจเต้นเร็วได้ (Rix et al., 2015) โดยปกติอาการเหล่านี้มักจะสังเกตได้เมื่อมีปริมาณของเมทฮีโมโกลบินมากกว่า 10% (Wright et al., 1999)

สารโซเดียมไนไตรท์มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ (oxidizing agent) เมื่อผ่านเข้าไปในเม็ดเลือดแดงจะ oxidize เหล็กในฮีโมโกลบินซึ่งมีประจุสองบวก (Fe^{2+}; ferrous ions) ให้เป็นเหล็กที่มีประจุสามบวก (Fe^{3+}; ferric ions) มีผลให้ฮีโมโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทฮีโมโกลบินซึ่งไม่สามารถทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนให้กับเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกายได้ (Kohn et al., 2002) ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้ทำการประเมินฤทธิ์ของโซเดียมไนไตรท์ต่อความเสียหายของเม็ดเลือด โดยการตรวจวัดจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ตรวจวัดค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต ดัชนีของเม็ดเลือดแดง (MCV, MCHC และ MCHC) และเมทฮีโมโกลบิน รวมทั้งศึกษาความเปราะของเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงด้วย จากการศึกษาพบว่าเลือดที่บ่มด้วยโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 μM ไม่ได้ทำลายจำนวนเม็ดเลือด และไม่ได้ส่งผลต่อค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต และดัชนีของเม็ดเลือดแดง รวมทั้งความเปราะของเยื่อหุ้มเซลล์ด้วย แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเลือดที่บ่มด้วยโซเดียมไนไตรท์ทำให้ค่าของ เมทฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้โซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 16 μM ทำให้เกิดเมทฮีโมโกลบิน 2.0% ซึ่งอยู่ในช่วงปกติของเมทฮีโมโกลบินที่เกิดขึ้นเองภายในร่างกายประมาณ 0.5 - 3% และจะถูกรักษาระดับไว้ประมาณ 1% ด้วยกระบวนการ NADH-cytochrome b5-metHb reductase และ NADPH dependent G6PD (Kanias, T. and Acker, J.P., 2010) และจากผลการศึกษาการสูดดมละอองฝอยของโซเดียมไนไตรท์ในผู้ป่วย pulmonary hypertension พบระดับไนไตรท์ในกระแสเลือดต่ำกว่า 16 μM และไม่มีผลข้างเคียงจากการใช้ (Bashline et al., 2020) ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดของไนไตรท์ในการศึกษาครั้งนี้ แต่สูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียที่มีภาวะ pulmonary hypertension พบระดับไนไตรท์ในกระแสเลือดเท่ากับ 0.56 μM (Sirirat et al, 2019) จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าควรมีการตรวจวัดปริมาณเมทฮีโมโกลบินเป็นประจำเพื่อประเมินอาการไม่พึงประสงค์ที่จะเกิดขึ้นจากการนำสารละลายโซเดียมไนไตรท์มาใช้เป็นยารักษาโรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือด

เอกสารอ้างอิง

Amdahl, M., DeMartino, A. & Gladwin, M. (2020). Inorganic nitrite bioactivation and role in physiological signaling and therapeutics. Biological Chemistry, 401(1), 201-211. https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0349

Bashline, M. J., Bachman, T. N., Helbling, N. L., Nouraie, M., Gladwin, M. T., & Simon, M. A. (2020). The Effects of Inhaled Sodium Nitrite on Pulmonary Vascular Impedance in Patients With Pulmonary Hypertension Associated with Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. Journal of cardiac failure, 26(8), 654–661. https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2020.04.006

Bebarta, V. S., Brittain, M., Chan, A., Garrett, N., Yoon, D., Burney, T., Mukai, D., Babin, M., Pilz, R. B., Mahon, S. B., Brenner, M., & Boss, G. R. (2017). Sodium Nitrite and Sodium Thiosulfate Are Effective Against Acute Cyanide Poisoning When Administered by Intramuscular Injection. Annals of emergency medicine, 69(6), 718–725.e4. https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.09.034

Bueno, M., Wang, J., Mora, A. L., & Gladwin, M. T. (2013). Nitrite signaling in pulmonary hypertension: mechanisms of bioactivation, signaling, and therapeutics. Antioxidants & redox signaling, 18(14), 1797–1809. https://doi.org/10.1089/ars.2012.4833

Dejam, A., Hunter, C. J., Pelletier, M. M., Hsu, L. L., Machado, R. F., Shiva, S., Power, G. G., Kelm, M., Gladwin, M. T., & Schechter, A. N. (2005). Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood. Blood, 106(2), 734–739. https://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0567

Dewey, M. J., Brown, J. L., & Nallaseth, F. S. (1982). Genetic differences in red cell osmotic fragility: analysis in allophenic mice. Blood, 59(5), 986–989.

Govari M. & Pexara A. (2018). Nitrates and Nitrites in meat products. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 66(3), 127-140. https://doi.org/10.12681/jhvms.15856

Hord, N. G., Tang, Y., & Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. The American journal of clinical nutrition, 90(1), 1–10. https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27131

Kanias, T. and Acker, J.P. (2010), Biopreservation of red blood cells – the struggle with hemoglobin oxidation. The FEBS Journal, 277: 343-356. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07472.x

Kaya, K., & Miura, T. (1982). Selective changes in fatty acid composition of phosphatidylserine in rat erythrocyte membrane induced by nitrate. Biochimica et biophysica acta, 688(2), 305–315. https://doi.org/10.1016/0005-2736(82)90341-8

Kohn, M. C., Melnick, R. L., Ye, F., & Portier, C. J. (2002). Pharmacokinetics of sodium nitrite-induced methemoglobinemia in the rat. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals, 30(6), 676–683. https://doi.org/10.1124/dmd.30.6.676

May, J. M., Qu, Z. C., Xia, L., & Cobb, C. E. (2000). Nitrite uptake and metabolism and oxidant stress in human erythrocytes. American journal of physiology. Cell physiology, 279(6), C1946–C1954. https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.6.C1946

Nilsson, K. F., & Gustafsson, L. E. (2019). Treatment with new organic nitrites in pulmonary hypertension of acute experimental pulmonary embolism. Pharmacology research & perspectives, 7(1), e00462. https://doi.org/10.1002/prp2.462

Parakaw, T., Suknuntha, K., Vivithanaporn, P., Schlagenhauf, A., Topanurak, S., Fucharoen, S., Pattanapanyasat, K., Schechter, A., Sibmooh, N., & Srihirun, S. (2017). Platelet inhibition and increased phosphorylated vasodilator-stimulated phosphoprotein following sodium nitrite inhalation. Nitric oxide : biology and chemistry, 66, 10–16. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.02.008

Rassaf, T., Ferdinandy, P., & Schulz, R. (2014). Nitrite in organ protection. British journal of pharmacology, 171(1), 1–11. https://doi.org/10.1111/bph.12291

Rix, P. J., Vick, A., Attkins, N. J., Barker, G. E., Bott, A. W., Alcorn, H., Jr, Gladwin, M. T., Shiva, S., Bradley, S., Hussaini, A., Hoye, W. L., Parsley, E. L., & Masamune, H. (2015). Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of nebulized sodium nitrite (AIR001) following repeat-dose inhalation in healthy subjects. Clinical pharmacokinetics, 54(3), 261–272. https://doi.org/10.1007/s40262-014-0201-y

Sato K. (2005) Methemoglobin. In: Drugs and Poisons in Humans. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-27579-7_72

Simon, M. A., Vanderpool, R. R., Nouraie, M., Bachman, T. N., White, P. M., Sugahara, M., Gorcsan, J., 3rd, Parsley, E. L., & Gladwin, M. T. (2016). Acute hemodynamic effects of inhaled sodium nitrite in pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved ejection fraction. JCI insight, 1(18), e89620. https://doi.org/10.1172/jci.insight.89620

Sirirat, K., Sriwantana, T., Kaewchuchuen, J., Paiboonsukwong, K., Fucharoen, S., Ritthidej, G., Parakaw, T., Srihirun, S., Vivithanaporn, P., Sritara, P., & Sibmooh, N. (2019). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of single dose of inhaled nebulized sodium nitrite in healthy and hemoglobin E/β-thalassemia subjects. Nitric oxide : biology and chemistry, 93, 6–14. https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.09.001

van Faassen, E. E., Bahrami, S., Feelisch, M., Hogg, N., Kelm, M., Kim-Shapiro, D. B., Kozlov, A. V., Li, H., Lundberg, J. O., Mason, R., Nohl, H., Rassaf, T., Samouilov, A., Slama-Schwok, A., Shiva, S.,

Vanin, A. F., Weitzberg, E., Zweier, J., & Gladwin, M. T. (2009). Nitrite as regulator of hypoxic signaling in mammalian physiology. Medicinal research reviews, 29(5), 683–741. https://doi.org/10.1002/med.20151

Wright, R. O., Lewander, W. J., & Woolf, A. D. (1999). Methemoglobinemia: etiology, pharmacology, and clinical management. Annals of emergency medicine, 34(5), 646–656. https://doi.org/10.1016/s0196-0644(99)70167-8

Yingchoncharoen, T., Rakyhao, T., Chuncharunee, S., Sritara, P., Pienvichit, P., Paiboonsukwong, K., Sathavorasmith, P., Sirirat, K., Sriwantana, T., Srihirun, S., & Sibmooh, N. (2018). Inhaled nebulized sodium nitrite decreases pulmonary artery pressure in β-thalassemia patients with pulmonary hypertension. Nitric oxide : biology and chemistry, 76, 174–178. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.010

Zavodnik, I. B., Lapshina, E. A., Rekawiecka, K., Zavodnik, L. B., Bartosz, G., & Bryszewska, M. (1999). Membrane effects of nitrite-induced oxidation of human red blood cells. Biochimica et biophysica acta, 1421(2), 306–316. https://doi.org/10.1016/s0005-2736(99)00136-4